

## **Resistencia a fármacos citotóxicos y fungicidas en levadura mediante complementación funcional de la ATPasa vacuolar por pirofosfatasa de membrana translocadoras de protones de origen vegetal**

**José R. Pérez-Castiñeira, Agustín Hernández y Aurelio Serrano**

*Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis, CSICUniversidad de Sevilla, Sevilla*

Las ATPasas vacuolares (V-ATPasas) son complejas bombas primarias de protones que juegan un papel esencial en la generación de gradientes electroquímicos en sistemas de endomembranas. Otra bomba de H<sup>+</sup> más simple que la V-ATPasa y que se colocaliza con ella se encuentra en las plantas y muchos protistas: la pirofosfatasa inorgánica translocadora de H<sup>+</sup> (H<sup>+</sup>-PPasa) formada por una única subunidad. La expresión de fusiones traduccionales de la región N-terminal de la H<sup>+</sup>-PPasa del protista *Trypanosoma cruzi* con su ortólogo vacuolar AVP1 de la planta *Arabidopsis thaliana* dirige estas quimeras preferentemente a las membranas internas de *S. cerevisiae*, aliviando eficazmente los fenotipos asociados a la deficiencia en V-ATPasa siempre que la PPasa citosólica esté inactiva. Esta complementación fenotípica se logró tanto si la V-ATPasa de la levadura estaba específicamente inhibida por antibióticos citotóxicos (bafilomicina A1) o fungicidas mofolinos (tridemorph), como en la estirpe mutante Vma1, deficiente en una subunidad catalítica de la V-ATPasa. Mediante colorantes fluorescentes se demostró que la acidificación de la vacuola se recupera y la vía endocítica se normaliza en mutantes *vma*-expresores de las H<sup>+</sup>-PPasas heterólogas.

Además, estudios bioquímicos e inmunoquímicos mostraron que estas H<sup>+</sup>-PPasas se localizan preferentemente en la membrana vacuolar. Estos resultados demuestran la capacidad de la H<sup>+</sup>-PPasa para generar por sí sola gradientes de pH fisiológicamente competentes. Además, la estrategia usada plantea nuevos métodos de tolerancia a fármacos citotóxicos y de estudio sobre posibles funciones alternativas de las V-ATPasas de hongos y animales, distintas de la mera acidificación de orgánulos intracelulares.

*Nota:* Proyectos P07-CVI-03082 y BFU2010-15622 (JA, MICINN y FEDER).